

*На правах рукописи*



БИКТАГИРОВ Тимур Булатович

**ЭПР/ДЭЯР-спектроскопия биосовместимых материалов на основе  
наноразмерного гидроксиапатита**

01.04.07 – физика конденсированного состояния

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Казань 2015

Работа выполнена в научно-исследовательской лаборатории магнитной радиоспектроскопии и квантовой электроники им. С.А. Альтшулера ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

**Научный руководитель:** кандидат физико-математических наук, доцент  
**Георгий Владимирович Мамин**

**Официальные оппоненты:** доктор физико-математических наук,  
профессор кафедры физики полупроводников и  
оптоэлектроники физического факультета  
Нижегородского государственного университета  
им. Н.И. Лобачевского  
**Ежевский Александр Александрович**

доктор физико-математических наук, профессор,  
заведующий лабораторией биофизики  
транспортных процессов Казанского института  
биохимии и биофизики Казанского научного  
центра РАН  
**Анисимов Александр Васильевич**

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетного  
учреждения науки «Казанский физико-  
технический институт им. Е.К. Завойского  
Казанского научного центра РАН»

Защита состоится 4 июня 2015 г. в 14 час. 30 мин. на заседании диссертационного совета Д 212.081.15 при ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д.16а, ауд. 110.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке им. Н.И. Лобачевского Казанского (Приволжского) федерального университета (г. Казань, ул. Кремлевская, д. 35). Электронная версия размещена на сайте (krfu.ru).

Автореферат разослан 16 апреля 2015 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета:  
д.ф.-м.н., профессор



Еремин М.В.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность работы

В последнее десятилетие наблюдается рост интереса к материалам на основе гидроксиапатита (ГАп,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) [1]. Модифицированный ГАп обладает широким спектром потенциальных и уже реализованных применений как для решения задач биомедицины (имплантация костной ткани [2], адресная доставка флуоресцирующих препаратов, контрастных агентов и лекарственных средств к исследуемым тканям [3], терапевтическое воздействие [4] и др.), так и в приборостроении (например, для создания катализаторов [5]).

Современные биомедицинские технологии предъявляют повышенные требования к индивидуальной и общей биосовместимости материалов на основе ГАп. В ряде работ было выдвинуто предположение, что использование наноразмерного ГАп существенно улучшает функциональные свойства материалов на его основе [1-4]. Подобная тенденция перехода к наноразмерным системам с неизбежностью ведет к необходимости применения различного аналитического оборудования для изучения вновь синтезируемых материалов, контроля их качества, контроля изменений их физико-химических характеристик с течением времени или под воздействием различных внешних факторов (температура, влажность, кислотность, химическое воздействие и т.п.). Одним из важных свойств биосовместимых материалов является наличие в них неконтролируемых примесей, способных, к примеру, повлиять на токсичность или, напротив, обусловить те или иные функциональные свойства материала. Для идентификации существующих естественно или созданных искусственно парамагнитных дефектов, определения их структуры и локализации эффективно применяются методы электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) и двойного электрон-ядерного резонанса (ДЭЯР) [6-7]. Однако методы ЭПР/ДЭЯР-спектроскопии в силу ряда причин до сих пор не входят в число стандартных, используемых для исчерпывающего анализа материалов на основе ГАп [8].

Несмотря на то, что методы ЭПР/ДЭЯР-спектроскопии предоставляют уникальные знания о локальной структуре парамагнитных центров, получение информации о свойствах материала только на основании интерпретации экспериментальных результатов и при отсутствии прочих априорных данных часто оказывается затруднительным. По этой причине чрезвычайно актуальным направлением исследований является комбинирование спектроскопии ЭПР/ДЭЯР и современных методов компьютерного моделирования физических процессов.

### **Цель и задачи работы**

Основная цель работы заключается в определении структурно-функциональных свойств наноразмерного ГАп синтетического и биологического происхождения с использованием методов ЭПР/ДЭЯР и численных расчетов методом теории функционала плотности.

Для реализации цели работы решались следующие задачи:

1. Экспериментальное определение спектроскопических параметров парамагнитных центров в образцах наноразмерного ГАп методами ЭПР/ДЭЯР-спектроскопии.

2. Идентификация химической природы, пространственной структуры и магнитных свойств исследуемых примесных центров с помощью численных расчетов, основанных на теории функционала плотности (DFT). Симуляция экспериментальных спектров ЭПР/ДЭЯР с помощью рассчитанных спектроскопических параметров.

3. Исследование эффектов одновременного допирования синтетического наноразмерного ГАп азотсодержащими и углеродсодержащими анионами.

4. Исследование влияния примесных катионов марганца на спектральные и релаксационные характеристики азотсодержащих парамагнитных центров при одновременном введении в структуру наноразмерного ГАп.

5. Проведение экспериментов по ЭПР-спектроскопии наноразмерного ГАп, содержащегося в атеросклеротической бляшке, с целью поиска прогностических маркеров развития кальцификации и атеросклеротических повреждений.

### **Научная новизна полученных результатов**

1. В облученных нанокристаллах ГАп впервые получены спектры ЭПР/ДЭЯР азотсодержащего радиационного радикала  $\text{NO}_3^{2-}$  на частоте 94 ГГц (W-диапазон), что в совокупности с измерениями на частоте 9 ГГц (X-диапазон) позволило с высокой точностью определить спектроскопические параметры парамагнитного центра.

2. С помощью численных расчетов методом теории функционала плотности были получены данные о физических характеристиках и пространственной структуре радикала  $\text{NO}_3^{2-}$ , а также его прекурсора, нитрат-аниона  $\text{NO}_3^-$ , в составе кристаллической решетки ГАп, согласующиеся с полученными экспериментальными результатами.

3. В образцах наноразмерного карбонизированного ГАп по изменению интенсивностей спектров ЭПР радикала  $\text{NO}_3^{2-}$  наблюдался эффект вытеснения нитратной примеси карбонат-анионом  $\text{CO}_3^{2-}$ .

4. Измерения релаксационных характеристик радиационного дефекта  $\text{NO}_3^{2-}$  совместно с численными расчетами методом теории функционала плотности выявили наличие корреляции во взаимном расположении ионов  $\text{Mn}^{2+}$  и противоположно заряженных азотных примесей  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_3^{2-}$  в нанокристаллах ГАп при содопировании.

### **Практическая значимость**

1. Разработанная методика, комбинирующая спектроскопию ЭПР/ДЭЯР и численные расчеты методом теории функционала плотности, может быть использована для установления локализации примесей в наноматериалах.

2. Предложен парамагнитный зонд – азотная примесь  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_3^{2-}$  – для контроля свойств и примесного состава при промышленном синтезе

структурно-функционализированных материалов на основе наноразмерного ГАп.

3. На примере взаимодействия азот- и углеродсодержащих групп продемонстрирована возможность удаления неконтролируемых анионных примесей из кристаллической структуры наноразмерного ГАп в процессе промышленного синтеза.

4. Результаты исследования наноразмерного ГАп представляют интерес с точки зрения поиска прогностических маркеров развития кальцификации стенок кровеносных сосудов при атеросклерозе.

5. Результаты работы легли в основу заявки на патент [A14], находящейся на стадии рассмотрения с февраля 2014 г.

#### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Модель центра  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_3^{2-}$  в составе наноразмерного ГАп, разработанная с использованием численных расчетов методом теории функционала плотности, хорошо описывает всю совокупность данных ЭПР/ДЭЯР-спектроскопии.

2. Спектроскопия ЭПР в сочетании с численными расчетами в рамках теории функционала плотности является эффективным методом исследования механизмов содопирования наноразмерного ГАп.

3. Результаты анализа зависимости интенсивности спектра ЭПР радиационного радикала  $\text{NO}_3^{2-}$  от концентрации углеродной примеси в структуре нанокристаллов ГАп и результаты численных расчетов методом теории функционала плотности указывают на энергетическую предрасположенность к замещению азотной примеси карбонат-анионами.

4. Измерения релаксационных характеристик радиационного радикала  $\text{NO}_3^{2-}$  и численные расчеты методом теории функционала плотности позволяют обнаружить наличие корреляции во взаимном расположении нитрат-анионов и ионов  $\text{Mn}^{2+}$  при их одновременном введении в структуру нанокристаллов ГАп.

5. Сигналы ЭПР парамагнитных центров в составе ГАп, содержащегося в кальцифицированных стенках кровеносных сосудов,

потенциально могут использоваться в качестве прогностических маркеров развития кальцификации и атеросклероза.

**Достоверность полученных результатов и обоснованность научных положений и выводов**, сформулированных в работе, обеспечивается использованием современных физических методов и корректных теоретических представлений при анализе экспериментальных результатов.

**Личный вклад автора** заключался в проведении экспериментов по ЭПР и ДЭЯР спектроскопии, осуществлении численных и аналитических расчетов. Автор принимал активное участие в анализе и обсуждении результатов, формулировке выводов и написании публикаций.

### **Апробация работы**

Результаты работы докладывались и обсуждались на следующих конференциях: GDCh FGMR 34th Annual Discussion Meeting "Advanced Magnetic Resonance for the Study of Dynamics in Biomolecules and Materials" (Halle, Germany, 2012), International Symposium "Modern Development of Magnetic Resonance" (Kazan, Russia, 2013), XVI, XVII International Youth Scientific School "Actual Problems of Magnetic Resonance and its Application" (Kazan, Russia, 2013, 2014), XV Feofilov Symposium on spectroscopy of crystals doped with rare earths and transition metal ions (Kazan, Russia, 2013), International Conference "Magnetic Resonance: Fundamental Research and Pioneering Applications" (Kazan, Russia, 2014) [A8-A14].

### **Публикации**

Основные результаты работы отражены в 7 научных статьях в ведущих рецензируемых изданиях, входящих в перечень научных изданий ВАК [A1-A7].

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа состоит из введения, шести глав, заключения и списка литературы. Общий объем диссертации составляет 113 страниц, включая 25 рисунков и 5 таблиц.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** отражена актуальность темы диссертации, сформулированы основные цели и задачи, а также основные положения, выносимые на защиту.

**Первая глава** работы содержит литературный обзор исследований дефектов и примесей в структуре синтетического и биогенного ГАп. Приведена информация о влиянии различных типов анионных и катионных примесей на физико-химические свойства практически-значимых биосовместимых материалов на основе наноразмерного ГАп. Обсуждаются преимущества спектроскопии ЭПР/ДЭЯР (в особенности на высоких частотах) для исследования примесей в структуре наноразмерного ГАп.

Во **второй главе** диссертации приведен краткий обзор методов и приближений, лежащих в основе численных расчетов электронной структуры, термодинамических и магнитных свойств дефектов и примесей в твердом теле в рамках теории функционала плотности (*density functional theory*, DFT) с периодическими граничными условиями. Излагаются теоретические основы вычисления спектроскопических параметров –  $g$ -фактора и постоянных сверхтонкого взаимодействия – парамагнитных дефектов в рамках псевдопотенциального приближения (метод GIPAW [9]).

В **третьей главе** описана методика подготовки и первичного лабораторного анализа образцов синтетического и биогенного наноразмерного ГАп, методики регистрации спектров ЭПР/ДЭЯР и релаксационных характеристик с помощью спектрометра Eleksys 580/680 производства компании “Bruker” на частотах X-диапазона (9 ГГц) и W-диапазона (95 ГГц), а также детали расчетов в рамках метода DFT с периодическими граничными условиями, реализованных в программном пакете Quantum Espresso [10]. Приводятся импульсные последовательности, применяемые для регистрации первичного и стимулированного электронного спинового эха, и последовательность Мимса для регистрации спектров ДЭЯР.

В **четвертой главе** продемонстрирована эффективность применения методов ЭПР/ДЭЯР в сочетании с расчетами DFT для установления природы и



локализации азотсодержащих центров, внедряющихся в структуру нанокристаллов ГАп в качестве неконтролируемой примеси в процессе синтеза.

Несмотря на то, что примесь присутствует в исследованных образцах в следовых концентрациях, что не позволило зарегистрировать ее с помощью других экспериментальных методик [11], высокая чувствительность ЭПР-спектроскопии дает возможность обнаружить и идентифицировать стабильный радиационный центр  $\text{NO}_3^{2-}$  (рисунок 1), прекурсором которого является нитрат-анион  $\text{NO}_3^-$ .

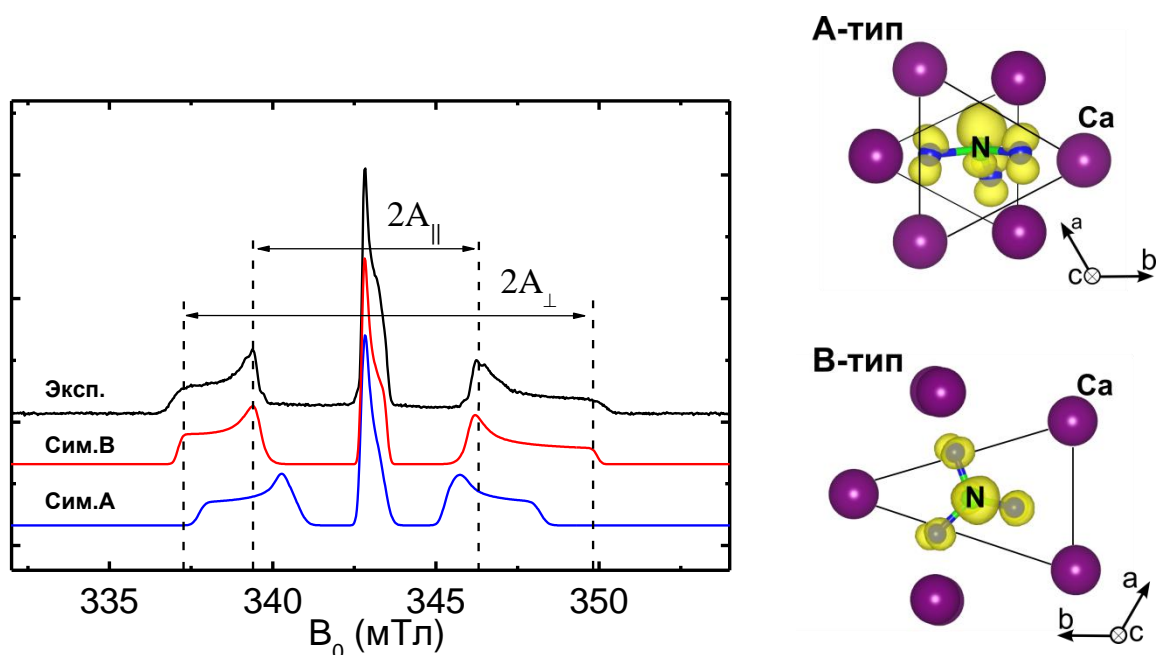


Рисунок 1. Слева: Экспериментальный спектр ЭПР стабильного радикала  $\text{NO}_3^{2-}$  в составе гидроксиапатита, детектированный по амплитуде первичного спинового эха в X-диапазоне (Эксп.), и спектры, смоделированные с использованием результатов расчетов методом DFT для моделей дефекта В-типа (Сим.В) и А-типа (Сим.А). Экспериментальный спектр получен при комнатной температуре в X-диапазоне. Справа: Структура парамагнитного дефекта  $\text{NO}_3^{2-}$  в конфигурациях А- и В-типа, полученная в результате оптимизации геометрии.

Соответствующий спектр ЭПР описывается спиновым гамильтонианом аксиальной симметрии:

$$H = g_{\parallel}\beta H_z S_z + g_{\perp}\beta(H_x S_x + H_y S_y) + A_{\parallel}S_z I_z + A_{\perp}(S_x I_x + S_y I_y), \quad (1)$$

где  $S=1/2$ ,  $I=1$ ,  $g_{\parallel}=2.0015(5)$ ,  $g_{\perp}=2.0055(5)$ ,  $A_{\parallel}=6.65(40)$  мТл,  $A_{\perp}=3.35(40)$  мТл.

Для исследуемого парамагнитного центра были также зарегистрированы спектры ДЭЯР, содержащие спектральные компоненты вблизи ларморовских частот  $^1\text{H}$  и  $^{31}\text{P}$ . Спектр ДЭЯР вблизи ларморовской частоты  $^1\text{H}$  приведен на рисунке 2 в качестве иллюстрации.

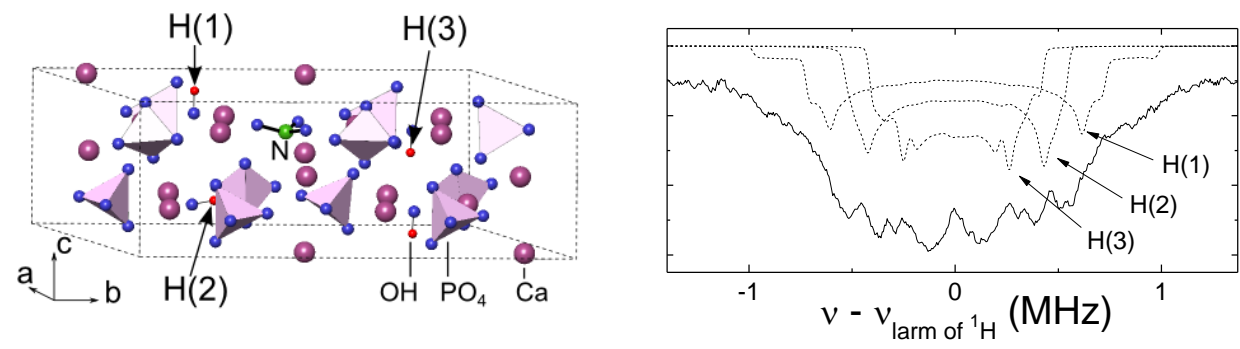


Рисунок 2. Слева: Ячейка ГАп, содержащая радикал  $\text{NO}_3^{2-}$  в В-позиции. На рисунке отмечены ближайшие к примесному центру атомы водорода, для которых были рассчитаны спектры ДЭЯР. Справа: Спектры ДЭЯР, рассчитанные для взаимодействия электронного спина со сферами ядер водорода  $^1\text{H}$  методом DFT, представлены совместно с экспериментальным спектром ДЭЯР в области ларморовской частоты протонов (W-диапазон,  $T=50\text{K}$ ).

С целью определения локализации примеси были проведены численные расчеты методом DFT. Были предложены две структурные модели дефекта: первая предполагает замещение нитрат-анионом группы OH (дефект А-типа), вторая – внедрение нитрата в позицию группы  $\text{PO}_4$  (дефект В-типа). Результат вычисления энергий формирования дефектов свидетельствуют в пользу преобладания конфигурации В-типа в широком диапазоне экспериментальных условий синтеза (с разностью в энергиях формирования, превышающей 1 эВ).

**Таблица 1.** Значения электрон-ядерных расстояний, рассчитанных из спектра ДЭЯР ( $r_{\text{exp}}$ ), и их сравнение со значениями, полученными из численных расчетов методом DFT ( $r_{\text{DFT}}$ )

Ядро	$r_{\text{exp}}$ (нм)	$r_{\text{DFT}}$ для типа А (нм)	$r_{\text{DFT}}$ для типа В (нм)
H(1)	0.42(1)	0.3	0.42
H(2)	0.47(1)	0.42	0.47
H(3)	0.51(1)	0.64	0.57
H(4)	0.67(1)	0.74	0.61
P	0.37(1)	0.36	0.4
$\Sigma(r_{\text{exp}}-r_{\text{calc}})^2$		0.039 нм <sup>2</sup>	0.008 нм <sup>2</sup>

Для исследования структуры и магнитных свойств парамагнитного радикала  $\text{NO}_3^{2-}$  были проведены спин-поляризованные DFT-расчеты с добавлением в ячейку дополнительного электрона. Следует подчеркнуть, что принимаемая идея о нелокальной компенсации заряда при формировании радиационного дефекта  $\text{NO}_3^{2-}$  [12-13] позволяет упростить модель, исключив центр компенсации из рассмотрения.

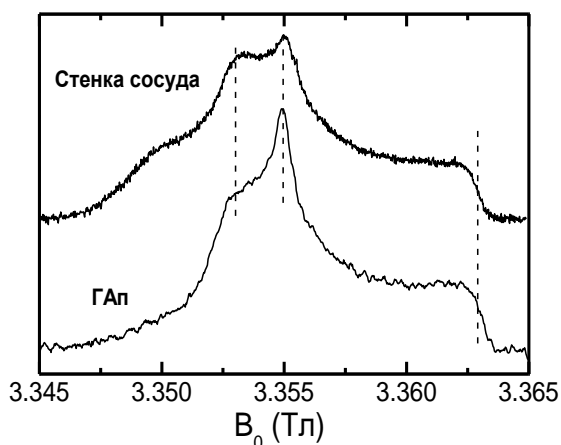


Рисунок 3. Эхо-детектированные спектры ЭПР радикала  $\text{CO}_2^-$  в образце кальцифицированной стенки сосуда (верхняя кривая) и в синтетическом карбонизированном ГАп (нижняя кривая), полученные при комнатной температуре в W-диапазоне.

В результате показано, что структурная информация, полученная в рамках расчетов DFT, эффективно дополняет стандартную методику интерпретации спектров ДЭЯР, основанную на определении электрон-ядерных расстояний в приближении точечных магнитных диполей, исходя из соответствующих величин расщеплений в измеренных спектрах. Из данных, приведенных в таблице 1, следует, что модель В-

типа значительно лучше согласуется с экспериментом, чем модель типа А.

Спектроскопические параметры (тензоры сверхтонкой структуры  $^{14}\text{N}$ ,  $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$  и  $g$ -тензор), рассчитанные для дефекта  $\text{NO}_3^{2-}$  в рамках метода DFT, также были сопоставлены с экспериментальными спектрами ЭПР (рисунок 1) и ДЭЯР (рисунок 2).

Высокая степень соответствия между спектроскопическими параметрами, вычисленными для модели В-типа, и измеренными в эксперименте, позволяет утверждать, что полученные спектры ЭПР и ДЭЯР обусловлены только радикалами в позиции группы  $\text{PO}_4$ .

В пятой главе продемонстрированы возможности спектроскопии ЭПР для идентификации углеродсодержащих радиационных радикалов как в

образцах синтетического наноразмерного ГАп с различной степенью карбонизации, так и в составе кальцифицированной стенки сосуда, а также для исследования механизмов содопирования нанокристаллов ГАп углерод- и азотсодержащими анионами. Первоначальный интерес к исследованию карбонизированного ГАп был мотивирован поиском прогностических маркеров развития кальцификации при атеросклерозе.

После воздействия рентгеновским излучением в образцах были зарегистрированы спектры ЭПР радикала  $\text{CO}_2^-$ , прекурсором которого является карбонат-анион  $\text{CO}_3^{2-}$  (типичные спектры, детектируемые по интенсивности первичного спинового эха в W-диапазоне, представлены на рисунке 3).

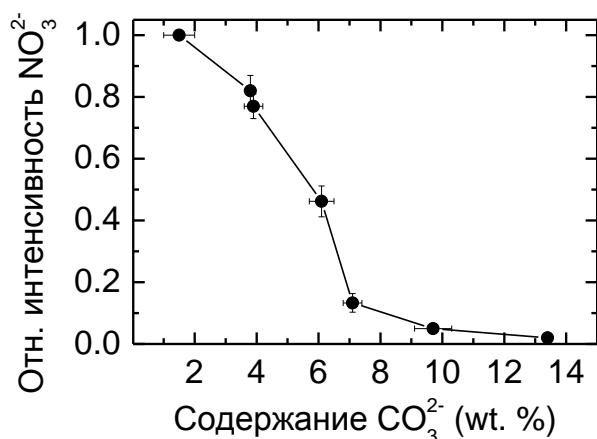


Рисунок 4. Зависимость нормированной интегральной интенсивности сигнала ЭПР радикала  $\text{NO}_3^{2-}$  от концентрации карбонат-аниона  $\text{CO}_3^{2-}$ , определенной с помощью волюметрического анализа.

радикала  $\text{CO}_2^-$  позволяет рассматривать его в качестве потенциального маркера при диагностике атеросклеротических повреждений. Потенциальные возможности современных методов спектроскопии ЭПР могут быть эффективно использованы в подобных исследованиях.

В образцах синтетического наноразмерного ГАп с одновременным содержанием углерод- и азотсодержащих примесей было обнаружено резкое

Несмотря на то, что в кальцифицированной стенке сосуда могут наблюдаться различные формы минеральных отложений [14], анализ параметров спектров ЭПР позволяет идентифицировать соответствующий радиационный радикал именно как дефект в кристаллической структуре биогенного ГАп. Отмеченная в работе корреляция между кальцификацией аорты и интенсивностью сигнала ЭПР

уменьшение интенсивности сигнала ЭПР радиационного радикала  $\text{NO}_3^{2-}$  с увеличением степени карбонизации (рисунок 4). Наблюдаемый эффект можно объяснить конкурирующим внедрением нитрата и карбоната в определенную позицию в структуре нанокристаллов ГАп в процессе синтеза. Выдвинутое предположение было подтверждено расчетами относительной стабильности дефекта  $\text{CO}_3^{2-}$  В-типа по сравнению с дефектом  $\text{NO}_3^-$  в В-позиции в рамках метода DFT. Было установлено, что разность энергий формирования дефектов составляет 5.5 эВ, что говорит об энергетической предпочтительности замещения группы  $\text{PO}_4$  ионом  $\text{CO}_3^{2-}$ , по сравнению с ее замещением  $\text{NO}_3^-$ .

Полученные закономерности в перспективе могут быть полезны для разработки методов контроля желаемой структуры и примесного состава материалов на основе карбонизированного ГАп в процессе их синтеза, а также могут представлять интерес для дальнейших фундаментальных исследований.

**Шестая глава** посвящена исследованию наноразмерного ГАп, одновременно допированного противоположно заряженными примесями нитрата  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_3^{2-}$  и марганца  $\text{Mn}^{2+}$ .

Допирование синтетического наноразмерного ГАп ионами марганца представляет практическую значимость как один из подходов к получению остеозамещающих материалов: ионы  $\text{Mn}^{2+}$  высвобождаются из решетки ГАп вследствие процессов ионного обмена и взаимодействуют с рецепторами клеток костной ткани, тем самым стимулируя адгезию клеток к имплантату, их распространение и выживаемость [15].

Метод импульсного ЭПР позволил выявить влияние быстро релаксирующих ионов  $\text{Mn}^{2+}$  на релаксационные характеристики радиационного радикала  $\text{NO}_3^{2-}$ , присутствующего в структуре наноразмерного ГАп в качестве примеси (рисунок 5). Таким образом, если учесть малую концентрацию обоих типов парамагнитных центров, можно ожидать существование тенденции к их взаимному расположению в пределах нанокристаллов ГАп.

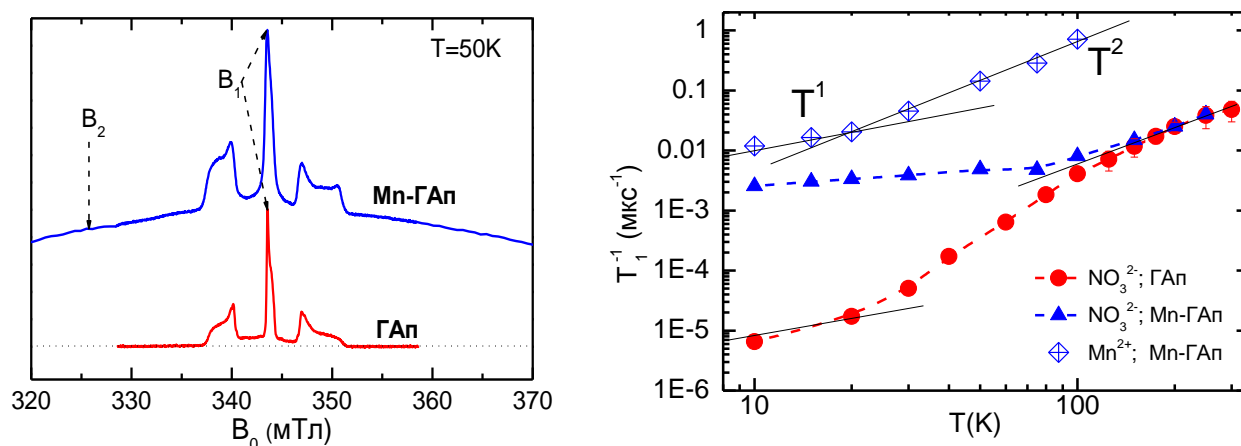


Рисунок 5. Слева: Эхо-детектированные спектры ЭПР нанокристаллов ГАп, допированного марганцем, (Мн-ГАп) и стехиометрического ГАп после воздействия рентгеновского излучения; X-диапазон,  $T=50\text{K}$ . Значения магнитного поля, на которых проводились измерения релаксационных характеристик, показаны стрелками:  $B_1$  – при измерении времен релаксации радикала  $\text{NO}_3^{2-}$ ,  $B_2$  – при измерении времен релаксации иона  $\text{Mn}^{2+}$ . Справа: Температурные зависимости времен продольной релаксации, измеренные в образцах стехиометрического ГАп ( $\text{NO}_3^{2-}$ ) и ГАп, допированного марганцем ( $\text{NO}_3^{2-}$  и  $\text{Mn}^{2+}$ ; Мн-ГАп).

Для исследования предрасположенности примесей  $\text{NO}_3^-$  и  $\text{Mn}^{2+}$  к локализации в пространственной близости в кристаллической решетке ГАп вычислялась следующая величина (т.н. энергия связывания):  $E_b = E(\text{NO}_3/\text{Mn}) + E(\text{HAp}) - E(\text{NO}_3) - E(\text{Mn})$ , где  $E(\text{NO}_3)$ ,  $E(\text{Mn})$  и  $E(\text{NO}_3/\text{Mn})$  — энергии основного состояния ячеек ГАп, содержащих ион  $\text{NO}_3^-$ , ион  $\text{Mn}^{2+}$  и обе примеси ( $\text{NO}_3^-$  и  $\text{Mn}^{2+}$ ), соответственно, а  $E(\text{HAp})$  — энергия аналогичной ячейки ГАп, не содержащей примесных центров. Значения  $E_b$ , рассчитанные и сопоставленные для разных вариантов взаимного расположения пары  $\text{NO}_3^-/\text{Mn}^{2+}$  (наибольшее по абсолютной величине обнаруженное значение составило  $-0.3$  эВ), указывают на энергетическую предрасположенность к содопированию. Кроме того, на основании полученных результатов можно сделать предположение о существовании тенденции к неоднородному распределению катионов  $\text{Mn}^{2+}$  вблизи анионной примеси. В свою очередь это должно напрямую влиять на функциональные свойства материала, в частности,

на протекание процессов ионного обмена и резорбции поверхности нанокристаллов.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Измерение спектров ЭПР и ДЭЯР образцов наноразмерного ГАп, полученных методом осаждения из водного раствора и облученного рентгеновским излучением, в X- и W-диапазоне позволило идентифицировать образующийся в них азотсодержащий радиационный центр как радикал  $\text{NO}_3^{2-}$ . С помощью расчета спектроскопических параметров ( $g$ -тензора и тензоров сверхтонкой структуры  $^{14}\text{N}$ ,  $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$ ) в рамках теории функционала плотности и последующим сравнении смоделированных спектров ЭПР и ДЭЯР с экспериментальными данными удалось установить, что радиационный радикал  $\text{NO}_3^{2-}$  в структуре ГАп замещает группу ортофосфата ( $\text{PO}_4^{3-}$ ). Кроме того, анализ рассчитанных из первых принципов энергий формирования дефекта указывает на то, что примесный ион  $\text{NO}_3^-$ , прекурсор радиационного радикала  $\text{NO}_3^{2-}$ , также имеет тенденцию к локализации в указанной позиции. Было выдвинуто предположение, что азотсодержащая примесь внедряется в структуру нанокристаллов ГАп в процессе синтеза.

2. Были измерены спектры ЭПР образцов наноразмерного ГАп, допированного ионами карбоната ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) и подвергнутого воздействию рентгеновского излучения. По изменению интенсивности спектра ЭПР радиационного радикала  $\text{NO}_3^{2-}$  в структуре ГАп при увеличении степени карбонизации получена информация о замещении нитратной примеси ионами карбоната. Показано, что разница рассчитанных из первых принципов энергий формирования нитратного и карбонатного дефекта в структуре ГАп согласуется с наблюдаемым в эксперименте эффектом. Предложено применение допирования ГАп ионами карбоната для удаления неконтролируемых анионных примесей из структуры наноразмерного ГАп.

3. Зарегистрированы спектры ЭПР образцов наноразмерного ГАп, допированного марганцем, до и после облучения рентгеновским излучением.

Использование подхода, комбинирующего экспериментальное измерение релаксационных характеристик радиационного радикала  $\text{NO}_3^{2-}$ , введенного в структуру ГАп, и DFT-расчеты, позволило выявить тенденцию ионов  $\text{Mn}^{2+}$  и противоположно заряженных азотных примесей локализоваться в пространственной близости в пределах нанокристаллов ГАп. Это является первым экспериментальным наблюдением взаимодействия противоположно заряженных примесных ионов в структуре ГАп, подтвержденное численными расчетами из первых принципов.

4. На основании анализа экспериментальных результатов [A1, A5-A7] для углеродосодержащих радиационных радикалов ( $\text{CO}_2^-$ ) а также для ионов  $\text{Mn}^{2+}$  сделано предположение об эквивалентности локального окружения этих центров в образцах кальцифицированной стенки сосуда и в структуре синтетического карбонизированного ГАп.

5. Полученная в работе информация об участках локализации и механизмах распределения карбоната и марганца в структуре ГАп может оказаться полезной при дальнейших исследованиях соответствующих парамагнитных центров в наноразмерном ГАп, образующемся в стенке сосуда при кальцификации. Отмеченная в работе корреляция между степенью кальцификации и интенсивностью (возможностью наблюдения) соответствующих сигналов ЭПР позволяет рассматривать указанные центры в качестве перспективных маркеров при диагностике атеросклеротических повреждений.



## ЦИТИРУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. LeGeros, R.Z. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates // Clin. Orthop. Relat. R. – 2002. – V. 395. – P. 81-98.
2. Zhou, H. Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering / H. Zhou, J. Lee // Acta Biomaterialia. – 2011. – V. 7 – P. 2769-2781.
3. Uskoković, V. Nanosized hydroxyapatite and other calcium phosphates: chemistry of formation and application as drug and gene delivery agents / V. Uskoković, D.P. Uskoković // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2011. – V. 96B – P. 152-191.
4. Chu, S.H. Hydroxyapatite nanoparticles inhibit the growth of human glioma cells in vitro and in vivo / S.H. Chu, D.F. Feng, Y.B. Ma, Z.Q. Li // Int. J. Nanomedicine. – 2012. – V. 7. – P. 3659-3666.
5. Modern heterogeneous oxidation catalysis: design, reactions and characterization / Ed. N. Mizuno // Weinheim: Wiley-VCH, 2009. – 356 p.
6. Fattibene, P. EPR dosimetry with tooth enamel: a review / P. Fattibene, F. Callens // Appl. Radiat. Isot. – 2010. – V. 68. – P. 2033–2116.
7. Абдульянов, В. А. Стационарный и импульсный высокочастотный ЭПР кальцифицированной атеросклеротической бляшки / В. А. Абдульянов, Л. Ф. Галиуллина, А. С. Галявич и др. // Письма в ЖЭТФ. – 2008. - Т. 88. - С. 75-79.
8. Markovic, M. Preparation and Comprehensive Characterization of a Calcium Hydroxyapatite Reference Material / M. Markovic, B.O. Fowler, M.S. Tung // J. Res. Nat. Inst. Stand. Technol. – 2004. – V. 109. – P. 553-568.
9. Pickard, C.J. All-electron magnetic response with pseudopotentials: NMR chemical shifts / C.J. Pickard, F. Mauri // Phys. Rev. B. – 2001. – V. 63. – P. 245101.
10. Giannozzi, P. QUANTUM ESPRESSO: a modular and open-source software project for quantum simulations of materials / P. Giannozzi, S. Baroni, N. Bonini, et al. // J. Phys. Condens. Matter. – 2009. – V. 21. – P. 395502

11. Kovaleva, E.S. Carbonated hydroxyapatite nanopowders for preparation of bioresorbable materials / E. S. Kovaleva, M. P. Shabanov, V. I. Putlayev, et al. // Mat.-wiss. u. Werkstofftech. – 2008. – V. 39, № 11. – P. 822-829.
12. Peckauskas, R.A. Nitrate radicals in apatites / R.A. Peckauskas, I. Pullman // J. Dent. Res. – 1975. – V. 54. – P. 1096.
13. Vorona, I.P.  $\text{NO}_3^{2-}$  centres in synthetic hydroxyapatite / I.P. Vorona, S.S. Ishchenko, N.P. Baran, et al. // Phys. Solid. State. – 2010. – V. 52. – P. 2364-2368.
14. Tomazic, B. B. Physicochemical principles of cardiovascular calcification / B. B. Tomazic // Z. Kardiol. – 2001. – V. 90, № 3. – P. 68–80.
15. Huang, Y. Characterisation, corrosion resistance and in vitro bioactivity of manganese-doped hydroxyapatite films electrodeposited on titanium / Y. Huang, Q. Ding, S. Han, et al. // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2013. – V. 24. – P. 1853-1864.

## ПУБЛИКАЦИИ АВТОРА ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

- A1. Biktagirov, T.B. A DFT, X- and W-band EPR and ENDOR study of nitrogen-centered species in (nano) hydroxyapatite / M.R. Gafurov, T.B. Biktagirov, G.V. Mamin, S.B. Orlinskii // *Appl. Magn. Reson.* – 2014. – V. 45. – P. 1189-1203.
- A2. Biktagirov, T.B. Combination of EPR measurements and DFT calculations to study nitrate impurities in the carbonated nanohydroxyapatite / T.B. Biktagirov, M.R. Gafurov, G.V. Mamin, E.S. Klimashina, V.I. Putlyayev, S.B. Orlinskii // *J. Phys. Chem. A.* – 2014. – V. 118. – P. 1519-1526.
- A3. Biktagirov, T.B. Nitrogen-containing species in the structure of the synthesized nano-hydroxyapatite / M.R. Gafurov, T.B. Biktagirov, B.V. Yavkin, G.V. Mamin, Y.Y. Filippov, E.S. Klimashina, V.I. Putlayev, S.B. Orlinskii. // *JETP letters.* – 2014. – V. 99. – P. 196-203.
- A4. Biktagirov, T.B. A study of hydroxyapatite nanocrystals by the multifrequency EPR and ENDOR spectroscopy methods / T.B. Biktagirov, M.R. Gafurov, G.V. Mamin, B.V. Yavkin, A.A. Rodionov, E.S. Klimashina, V.I. Putlyayev, Y.Y. Fillipov, S.B. Orlinskii // *Optics and Spectroscopy.* – 2014. – V. 116. – P. 715-720.
- A5. Biktagirov, T.B. Investigation of atherosclerotic plaque by high-frequency EPR. / T.B. Biktagirov, Yu.A. Chelyshev, M.R. Gafurov, G.V. Mamin, S.B. Orlinskii, Y.N. Osin, M.Kh. Salakhov // *J. Phys.: Conf. Ser.* – 2013. – V. 478. – P. 012002.
- A6. Biktagirov, T.B. Atherosclerotic plaque and hydroxyapatite nanostructures studied by high-frequency EPR. / M.R. Gafurov, B.V. Yavkin, T.B. Biktagirov, GV Mamin, S.B. Orlinskii, V.V. Izotov, M. Kh. Salakhov, E.S. Klimashina, V.I. Putlayev, V.A. Abdulyanov, I.M. Ignatjev, R.N. Khairullin, A.V. Zamochkin, Yu. A. Chelyshev // *Magn. Reson. Solids.* – 2013. – V. 15. – P. 13102.
- A7. Biktagirov, T.B. Manganese in atherogenesis: Detection, origin, and a role / A.P. Lozhkin, T.B. Biktagirov, V.A. Abdul'yanov, O.V. Gorshkov, E.V. Timonina, G.V. Mamin, S.B. Orlinskii, N.I. Silkin, V.M. Chernov, R.N. Khairullin,

M.Kh. Salakhov, O.N. Ilinskaya // Biochem. (Moscow) Supp. Series B: Biomed. Chem. – 2011. – V. 5. – P. 158-162.

A8. Biktagirov, T.B. EPR and ENDOR study of the hydroxyapatite nanoparticles / M.R. Gafurov, T.B. Biktagirov, G.V. Mamin, S.B. Orlinskii, E.S. Klimashina, V.I. Putlyayev, A.V. Zamochkin, I.M. Ignatjev // GDCh FGMR 34th Annual Discussion Meeting "Advanced Magnetic Resonance for the Study of Dynamics in Biomolecules and Materials" (Halle, Germany, 17-22 September 2012). – Halle, 2012. – P. 81.

A9. Biktagirov, T.B. A multi-frequency EPR and ENDOR study of NO defect in nanosized hydroxyapatite / T.B. Biktagirov, M.R. Gafurov, G.V. Mamin, A.A. Rodionov, B.V. Yavkin, E.S. Klimashina, V.I. Putlayev // International Symposium "Modern Development of Magnetic Resonance": book of abstracts (Kazan, Russia, 24-28 September 2013). – Kazan, 2013. – P. 93-94.

A10. Biktagirov, T.B. Nitrogen-containing species in the structure of hydroxyapatite nanocrystals: a combined multifrequency EPR/ENDOR and DFT study / T.B. Biktagirov, M.R. Gafurov, B.V. Yavkin, G.V. Mamin, S.B. Orlinskii, E.S. Klimashina, V. I. Putlayev // XVI International Youth Scientific School "Actual Problems of Magnetic Resonance and its Applications": proceedings (Kazan, October 21-25, 2013). – Kazan, 2013. – P. 84-86.

A11. Biktagirov, T.B. Nano-hydroxyapatite as studied by multi-frequency (9 and 94 GHz) EPR and ENDOR / T.B. Biktagirov, M.R. Gafurov, G.V. Mamin, S.B. Orlinskii, A.A. Rodionov, B.V. Yavkin, E.S. Klimashina, V.I. Putlayev // XV Feofilov Symposium (Kazan, September 16-20, 2013). – Kazan, 2013. – P. 176.

A12. Biktagirov, T.B. Multi-frequency EPR/ENDOR and DFT study of impurities in (nano)hydroxyapatite / T.B. Biktagirov, M.R. Gafurov, G.V. Mamin, K.B. Iskhakova, E.S. Klimashina, V.I. Putlayev, S.B. Orlinskii // XVII International Youth Scientific School "Actual Problems of Magnetic Resonance and its Applications": proceedings (Kazan, June 22-27, 2014). – Kazan, 2014. – P. 19.

A13. Biktagirov, T.B. Combination of multi-frequency EPR/ENDOR measurements and DFT analysis to study the impurities in nanohydroxyapatite / T.B. Biktagirov, M.R. Gafurov, G.V. Mamin, S.B. Orlinskii, E.S. Klimashina, V.I. Putlayev. // International Conference “Magnetic Resonance: Fundamental Research and Pioneering Applications”: book of abstracts (Kazan, June 23-27, 2014). – Kazan, 2014. – P. 61.

A14. Способ определения позиции примесей нитратных соединений в гидроксипатите: пат. РФ на изобретение / Т.Б. Биктагиров, М.Р. Гафуров, Г.В. Мамин, С.Б. Орлинский; заявитель ФГАОУ ВПО КФУ. – № 201410524/28; заявл. 11.02.2014 (на стадии рассмотрения).

## БЛАГОДАРНОСТИ

Автор глубоко благодарен профессору Силкину Николаю Ивановичу за пробуждение интереса к науке. Автор выражает огромную благодарность своему научному руководителю доценту Мамину Георгию Владимировичу за всестороннюю поддержку в процессе работы, ценные идеи и рекомендации, а также доценту Орлинскому Сергею Борисовичу и Гафурову Марату Ревгеровичу за помощь в проведении работы, обсуждении и интерпретации результатов.

Благодарность выражается профессору Тагирову Мурату Салиховичу, профессору Чельшеву Юрию Александровичу (КГМУ), профессору Хайнцу-Юргену Штайнхоффу (Университет Оснабрюка, Германия), доценту Путляеву Владимиру Ивановичу (МГУ), Осину Юрию Николаевичу, Ложкину Андрею Петровичу, Родионову Александру Александровичу и Явкину Борису Владимировичу за помощь на различных этапах работы над диссертацией.

Автор выражает признательность всем сотрудникам кафедры квантовой электроники и радиоспектроскопии, в особенности доценту Юсупову Роману Валерьевичу, Звереву Дмитрию Германовичу, Кутьину Юрию Сергеевичу, за поддержку в работе.